

УДК 576.893 : 595.767.29

ВЛИЯНИЕ ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПРОСТЕЙШИХ
НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ
ОРГАНИЗМА МАЛЫХ ХРУЩАКОВ
(COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)

М. В. Листов

Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, Ленинград

В статье приведены данные по заражению *Tribolium destructor* Uytt. и *T. confusum* Duv. микроспородиями *Nosema whitei* Weiser, 1953 и кокцидиями *Adelina tribolii* Bhatia, 1937. Представлены материалы по патогенезу заболеваний и влиянию микроспоридиоза и кокцидии на физиологические процессы, связанные с дыханием насекомых-хозяев. Показано, что заражение личинок хрущаков микроспоридиями и кокцидиями приводит к существенным нарушениям метаболизма насекомых-хозяев.

Среди большого числа энтомопатогенных простейших только три группы облигатных паразитов представляют интерес для биологической борьбы. Это микроспоридии, шизогрегарии и кокцидии. Характерной чертой развития этих простейших является наличие бесполого процесса размножения (шизогонии), благодаря которому возможно бурное нарастание численности паразитов в тканях и органах хозяев, заканчивающееся половым процессом (спорогонией) с образованием спор.

Микроспоридии, шизогрегарии и кокцидии насекомых-вредителей продовольственных запасов поражают у своих хозяев преимущественно жировое тело — ткань, в которой откладываются запасные питательные вещества и которая является важным центром метаболизма в организме насекомых (Benz, 1963).

Ранее нами уже рассматривался вопрос о влиянии инвазий микроспоридий и кокцидий на гормональный обмен в организме малых мучных хрущаков (Листов, 1977). В названной работе было, в частности, высказано предположение, что причиной нарушения гормонального равновесия в организме больных насекомых являлось разрушение паразитами жирового тела хозяев к моменту метаморфоза. Метаморфоз больных насекомых заканчивался нормально лишь в тех случаях, когда уровень разрушения жирового тела паразитами не превышал 24% у личинок и 30% у куколок.

Целью настоящей работы было изучение влияния инвазий микроспоридий *N. whitei* и кокцидий *A. tribolii* на некоторые показатели обмена веществ в организме малых мучных хрущаков. Физиологическое состояние насекомых исследовали, как правило, на 14-е, 17-е, 20-е, 24-е и 26-е сутки инвазии и сопоставляли с динамикой развития микроспоридий и кокцидий, изучение которых проводили в нативных мазках жирового тела хрущаков с помощью микроскопа. В качестве основных физиологических показателей нами были взяты количество потребляемого хрущаками кислорода, дыхательный коэффициент и активность тканевой каталазы насекомых.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проводились нами на двух видах хрущаков: малом черном *T. destructor* и малом мучном *T. confusum*.

Для приготовления инвазионного корма подсчет спор паразитов производили в камере Горяева. Заражение *T. confusum* осуществляли на корме, содержащем: микроспоридий — $(9.8 \pm 3.4) \times 10^7$ спор/г, кокцидий — $(9 \pm 3.4) \times 10^6$ спороцист (спор)/г; заражение *T. destructor* осуществляли на корме с концентрацией паразитов в 10 раз ниже.

Насекомых заражали на фазе личинки II возраста при 25°. Экспозиция личинок *T. confusum* на зараженном корме составляла 54 ч, а *T. destructor* 66 ч, после чего их переносили на стерильный корм (мука с примесью сухих дрожжей 12 : 1) и культивировали при 28° и относительной влажности воздуха около 75%.

Определение поглощенного насекомыми кислорода и выделенной при дыхании углекислоты, а также активности тканевой каталазы проводили манометрическим методом на аппарате Варбурга (Умбрейт и др., 1951; Семихатова и др., 1965) при 25°.

За сутки до проведения опытов личинки вынимали из термостата и помещали в чашки Петри при комнатной температуре для адаптации. Опыты по определению интенсивности дыхания проводили в 2 повторностях в течение 4 ч на группах из 10 личинок каждая. Активность тканевой каталазы измеряли по скорости разложения 6% перекиси водорода в соответствии с методикой, описываемой Кожанчиковым (1961).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 и 2 представлены результаты опытов по изучению потребления кислорода личинками *T. destructor* и *T. confusum* в процессе инвазии кокцидиями и микроспоридиями. Потребление кислорода за 1 ч при 25° незараженными (контрольными) личинками *T. confusum* было значительно ниже по сравнению с *T. destructor* ($p < 0.05$). Такая же закономерность наблюдалась и при заражении насекомых простейшими.

Т а б л и ц а 1

Потребление кислорода подопытными личинками *T. destructor*, зараженными простейшими

Варианты	Поглощение O_2 (мм ³ на 1 г живого веса за 1 ч при +25°) ($M \pm m$)			
	14-е сутки	17-е сутки	20-е сутки	26-е сутки
Контроль (незараженные)				
<i>A. tribolii</i>	2000 \pm 155 1500 \pm 205 $p > 0.05$	1620 \pm 80 1560 \pm 85 $p > 0.05$	2350 \pm 140 2030 \pm 110 $p > 0.05$	1130 \pm 40 1120 \pm 40 $p > 0.05$
<i>N. whitei</i>	1980 \pm 105 $p > 0.05$	1300 \pm 50 $p < 0.05$	1500 \pm 80 $p < 0.05$	1020 \pm 25 $p < 0.05$

Т а б л и ц а 2

Потребление кислорода подопытными личинками *T. confusum*, зараженными простейшими

Варианты	Поглощение O_2 (мм ³ на 1 г живого веса за 1 ч при +25°) ($M \pm m$)			
	17-е сутки	20-е сутки	24-е сутки	51-е сутки
Контроль				
<i>A. tribolii</i>	1040 \pm 80 1080 \pm 100 $p > 0.05$	780 \pm 60 1150 \pm 90 $p < 0.05$	813 \pm 35 1180 \pm 105 $p < 0.05$	—
<i>N. whitei</i>	1180 \pm 95 $p > 0.05$	1130 \pm 80 $p < 0.05$	995 \pm 50 $p < 0.05$	513 \pm 25

Начиная с 17 суток опыта, интенсивность дыхания личинок *T. destructor*, зараженных микроспоридиями, была значительно ниже, чем в контроле ($p < 0.05$), в то же время существенных различий в потреблении кислорода контрольными личинками и зараженными кокцидиями нами не наблюдалось. Резкое снижение потребления кислорода личинками *T. destructor*, зараженными кокцидиями, наблюдалось на 26-е сутки, которые совпадали с периодом завершения отмирания подопытных насекомых (рис. 1). Следует отметить, что 26-е сутки опыта совпадали также с началом периода подготовки контрольных личинок *T. destructor* к окукливанию, в связи с чем уровень потребления ими кислорода снижался, и интенсивность дыхания зараженных и контрольных насекомых несколько выравнивалась (табл. 1).

Снижение интенсивности дыхания личинок *T. confusum*, зараженных микроспоридиями, происходило значительно позднее, чем у *T. destructor* (табл. 1, 2). В период с 20-х по 24-е сутки опыта интенсивность дыхания

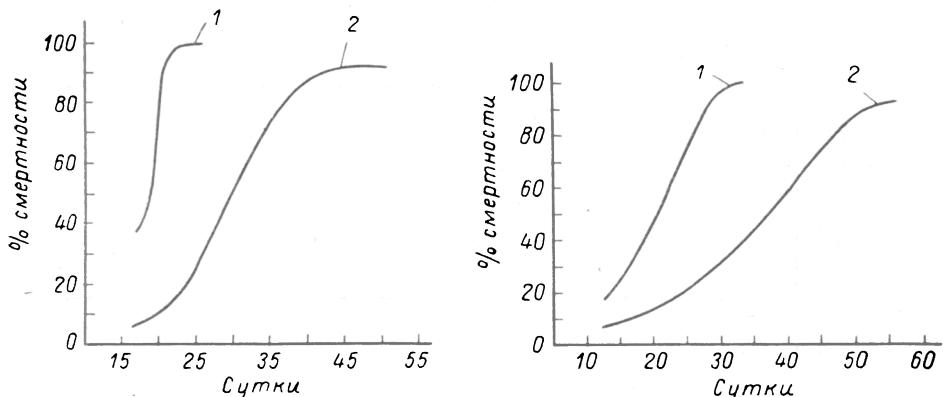


Рис. 1. Динамика смертности *T. destructor* (1) и *T. confusum* (2) от кокцидиоза при температуре $+28^\circ$ ($LT_{50}^1=18$ дн., $LT_{50}^2=30$ дн.). Заражение личинок II возраста при $+25^\circ$ в течение 51 ч на среде, содержащей *A. tribolii* 9×10^6 спор/г.

Рис. 2. Динамика смертности *T. destructor* (1) и *T. confusum* (2) от микроспоридиоза при температуре $+28^\circ$ ($LT_{50}^1=20.5$ дн., $LT_{50}^2=37$ дн.). Заражение личинок II возраста при $+25^\circ$ в течение 51 ч на среде, содержащей *N. whitei* 9.8×10^7 спор/г.

у личинок *T. confusum*, зараженных кокцидиями и микроспоридиями, была даже выше, чем в контроле ($p < 0.05$). Это явление объясняется уменьшением уровня потребления кислорода контрольными личинками *T. confusum* перед окукливанием (20—24-е сутки), в то время как у личинок, зараженных простейшими, подготовки к окукливанию не наблюдалось.

Теоретически паразитические микроорганизмы могут влиять на дыхание насекомых либо на организменном уровне путем разрушения трахейной или нервной системы, или на клеточном уровне путем воздействия на систему дыхательных ферментов (Benz, 1963). Микроспоридии *N. whitei* (Weiser, 1953; Milner, 1972) и кокцидии *A. tribolii* (Bhatia, 1937) поражают у своих хозяев только клетки жирового тела. Снижение интенсивности дыхания у личинок хрущаков, зараженных простейшими, происходит, как нам кажется, в результате уменьшения двигательной активности больных насекомых по мере нарастания инвазии паразитов. Кроме того, имеет место вмешательство микроспоридий и кокцидий в деятельность системы дыхательных ферментов хозяев, что было показано нами при изучении динамики активности каталазы в тканях малых хрущаков, зараженных *N. whitei* и *A. tribolii* (табл. 3).

Опыты по определению активности каталазы в водных взвесях спор *N. whitei* и цист *A. tribolii* не показали значительного выделения кислорода, которое происходило в присутствии тканей недавно убитых насекомых. Активность каталазы в тканях контрольных личинок *T. confusum* и

Т а б л и ц а 3

Динамика активности катализы в тканях малых хрущаков, зараженных простейшими *N. whitei* и *A. tribolii*

Варианты	Число замеров за каждые сутки	Активность катализы (количество выделившегося O_2 в мл на 1 мг ткани за 15 мин при $+25^\circ$) ($M \pm m$)						
		личинки						куколки
		14-е сутки	16-е сутки	21-е сутки	24-е сутки	28-е сутки	33-и сутки	
М а л ы й м у ч н о й х р у щ а к								
Контроль	8	1.67 \pm 0.095	1.88 \pm 0.085	2.58 \pm 0.135	2.36 \pm 0.29	—	—	2.36 \pm 0.2
<i>N. whitei</i>	8	2.05 \pm 0.144	1.99 \pm 0.175	2.48 \pm 0.105	1.92 \pm 0.26	—	1.725 \pm 0.1	1.75 \pm 0.045
		<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05		<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
<i>A. tribolii</i>	8	2.2 \pm 0.2	2.26 \pm 0.19	2.7 \pm 0.185	2.18 \pm 0.19	—	1.61 \pm 0.155	1.64 \pm 0.074
		<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05		<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
М а л ы й ч е р н о й х р у щ а к								
Контроль	8	1.49 \pm 0.2	1.84 \pm 0.15	1.43 \pm 0.096	—	—	1.69 \pm 0.1	—
<i>N. whitei</i>	8	1.24 \pm 0.15	1.58 \pm 0.082	1.2 \pm 0.079	—	—	1.05 \pm 0.054	—
		<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05			<i>p</i> < 0.05	—
<i>A. tribolii</i>	8	1.47 \pm 0.11	1.89 \pm 0.11	1.82 \pm 0.082	—	—	1.18 \pm 0.085	—
		<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> < 0.05			<i>p</i> < 0.05	—

T. destructor, как и следовало ожидать, была неравномерной в процессе роста и развития насекомых и повышалась в период подготовки личинок к окукливанию (21-е, 24-е сутки у *T. confusum* и 28-е — у *T. destructor*), достигая максимальных значений у предкуколок и куколок (табл. 3). Уровень активности каталазы у личинок, предкуколок и куколок *T. confusum* был, как правило, значительно выше, чем у *T. destructor* ($p < 0.05$).

У личинок хрущаков, зараженных простейшими, также наблюдались колебания активности тканевой каталазы в процессе развития, однако уровень активности каталазы к моменту окукливания контрольных личинок у больных особей снижался. Снижение активности каталазы в тканях личинок было более резким у *T. destructor*, чем у *T. confusum* (табл. 3).

Анализируя данные табл. 3, нельзя не отметить, что уровень активности каталазы в тканях личинок хрущаков, пораженных микроспоридиями, был всегда ниже, чем при поражении кокцидиями, а у куколок *T. confusum* картина имела противоположный характер.

Скорость отмирания зараженных паразитами личинок *T. confusum*, как правило, была ниже, чем *T. destructor* (рис. 1, 2). Это явление отмечалось нами при заражении хрущаков микроспоридиями и кокцидиями, выделенными как из личинок *T. confusum*, так и *T. destructor* (Листов, 1976). Используя медицинскую терминологию, можно сказать, что малые мучные хрущаки, зараженные микроспоридиями и кокцидиями, страдают меньше, чем малые черные хрущаки, у которых оба заболевания носят более острый характер и сопровождаются более резкими нарушениями обмена веществ.

Микроскопический анализ мазков жирового тела личинок хрущаков, зараженных простейшими, показал, что массовая споруляция микроспоридий *N. whitei* при температуре $+28^\circ$ происходила на 16—17-е сутки инвазии. В это же время наблюдалось появление гамет и зигот (неспорулированных ооцист) у кокцидий *A. tribolii*.

К 20-м суткам инвазии споруляция микроспоридий в основном заканчивалась, и в мазках жирового тела больных микроспоридиозом личинок можно было обнаружить огромное количество сформировавшихся из удлиненных споробластов спор паразита. В мазках жирового тела личинок хрущаков, зараженных кокцидиями, на 20-е сутки инвазии в основном присутствовали неспорулированные, а с 21-х суток и спорулированные ооцисты.

Отношение числа спорулированных к числу неспорулированных ооцист *A. tribolii* в жировом теле, погибших от кокцидиоза, личинок малых черных хрущаков было выше, чем у малых мучных, и составляло 3.15 ± 0.5 и 2.16 ± 0.3 соответственно, что указывает на наличие в организме *T. confusum* каких-то физиологических особенностей, тормозящих развитие паразитов, и тесно смыкается с тем фактом, что скорость отмирания зараженных равными дозами спор паразитов личинок *T. confusum* была ниже, чем *T. destructor* (рис. 1, 2).

Дыхательный коэффициент в период подготовки контрольных насекомых к окукливанию был равен 0.64 у *T. destructor* и 0.71 у *T. confusum*, а у куколок равнялся 0.74 и 0.67, приближаясь к значению, соответствующему окислению жиров. В то же время дыхательный коэффициент у личинок *T. destructor*, зараженных микроспоридиями и кокцидиями, был приблизительно равен 0.8, соответствующим образом, окислению белков, а у личинок *T. confusum* равнялся 1. Использование белков в качестве субстрата для дыхания является не свойственным для здорового организма и говорит о практически полной утилизации запасных питательных веществ в жировом теле личинок *T. destructor* уже на 26-е сутки инвазии микроспоридиями и кокцидиями, в то время как у зараженных личинок *T. confusum* это наблюдалось позднее (в опытах наших на 51-е сутки).

В опытах по изучению эндогенного дыхания и сегментации ооцист кокцидий *Eimeria tenella* во время споруляции (Yvore a. oth., 1972) было показано, что спорообразование у *E. tenella* является аэробным процессом и делится на 3 периода. На протяжении этих периодов дыхательный

коэффициент имеет ярко выраженную тенденцию к снижению от 1 к 0.8. Уровень потребления паразитами кислорода, имеющий максимальное значение в конце периода, предшествующего сегментации ооцист (I период), также снижается в процессе сегментации и споруляции ооцист во II и III периодах. Общий расход кислорода при $+29^{\circ}$ составил 920 мл на 10^6 ооцист *E. tenella*.

В настоящее время мы не располагаем собственными данными по изучению дыхания ооцист *A. tribolii* *in vitro*. Однако на основании вышеизложенных материалов можно сделать предположение, что дыхание кокцидий *A. tribolii* накладывало определенный отпечаток на данные, полученные нами в опытах с хрущаками. Аналогичное предположение следует сделать и для микроспоридий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заражение личинок малых мучных и малых черных хрущаков микроспоридиями *N. whitei* и кокцидиями *A. tribolii* приводит к существенным нарушениям метаболизма насекомых. Особенно отчетливо эти нарушения проявляются после споруляции простейших и выражаются в том, что в организме зараженных личинок не происходит тех физиологических перестроек, которые имеют место у здоровых особей перед окукливанием. Так, к моменту окукливания хрущаков в контроле дыхательный коэффициент инвазированных личинок *T. destructor* приближается к 0.8, т. е. значению, соответствующему окислению белков, а не жиров, как это наблюдается в контроле, а активность тканевой каталазы у больных хрущаков обоих видов в противоположность здоровым резко снижается.

Исследованные в наших опытах физиологические характеристики незараженных простейших личинок *T. confusum* и *T. destructor* существенно различаются. В то же время течение микроспоридиоза и кокцидиоза у *T. destructor* носит более острый характер и сопровождается более резкими нарушениями обмена веществ, чем у *T. confusum*.

На основании результатов проведенных опытов можно заключить, что паразитические простейшие влияют на физиологическое состояние организма хрущаков не в одностороннем порядке, но и сами испытывают определенное давление со стороны хозяина, обусловленное, по-видимому, физиологическими и биохимическими особенностями его организма.

Л и т е р а т у р а

Кожанчиков И. В. 1961. Методы исследования экологии насекомых. Изд. «Высшая школа». М.: 286.

Листов М. В. 1976. Микроспоридиоз и кокцидиоз — протозойные заболевания малых хрущаков (Coleoptera, Tenebrionidae). Паразитология, 10 (3): 268—273.

Листов М. В. 1977. Влияние патогенных простейших на гормональный баланс малых хрущаков (Coleoptera, Tenebrionidae). Энтом. обзор., 56 (4): 731—735.

Семихатова О. А., Чулановская М. В. 1965. Манометрические методы измерения дыхания и фотосинтеза растений. Изд-во «Наука», М.—Л.: 168.

Умбрейт В. В., Буррис О. Х., Штадуфер Д. Ф. 1951. Манометрические методы изучения тканевого обмена. ИЛ, М.: 359.

Benz G. 1963. Physiopathology and histochemistry. In Insect pathology, v. 1. Acad. Press, N. Y. a. London: 299—338.

Bhatia M. L. 1937. On *Adelina tribolii* a coccidian parasite of *Tribolium ferrugineum* F. Parasitology, 29 (2): 239—246.

Milner R. J. 1972. *Nosema whitei*, a microsporidan pathogen of some species of *Tribolium*. 1. Morphology, life cycle and generation time. J. Invertebr. Pathol., 19: 231—238.

Weiser J. 1953. Schizogregariny z hmyzu skodiciho masobam mouky. Vestnik zool. spol., 17: 192—211.

Yvore P., Couder P. 1972. Etude de la respiration endogène et de la segmentation de l'ooocyste d'*Eimeria tenella* durant la sporogonie. Ann. rech. vét., 3 (1): 131—142.

THE EFFECT OF PARASITIC PROTOZOANS ON THE PHYSIOLOGICAL
STATE OF TENEBRIONID BEETLES (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)

M. V. Listov

S U M M A R Y

Studies were conducted of diseases of *Tribolium destructor* and *T. confusum* caused by parasites of the fat body, microsporidians of *Nosema whitei* and coccidians of *Adelina tribolii*. The infection of larvae of tenebrionid beetles with microsporidians and coccidians results in substantial changes in the metabolism of insects—hosts (respiratory metabolism is disturbed and activity of tissue catalase is reduced). Physiological characteristics of uninfected larvae of *T. confusum* and *T. destructor* differ considerably. In *T. destructor* the disease is more acute in its character and is accompanied by more sharp changes in metabolism as compared to *T. confusum*.

On the basis of experiments conducted the author came to the conclusion that parasitic protozoans affect the physiological state of tenebrionid beetles in many ways. On the other hand the tenebrionids themselves are somehow affected by the host that apparently is stipulated by physiological and biochemical peculiarities of the organism of the latter.
